

Elektroforese als differentiatiemethode toegepast op *Phyllonorycter* (Lepidoptera : Gracillariidae)

door

Hans HENDERICKX

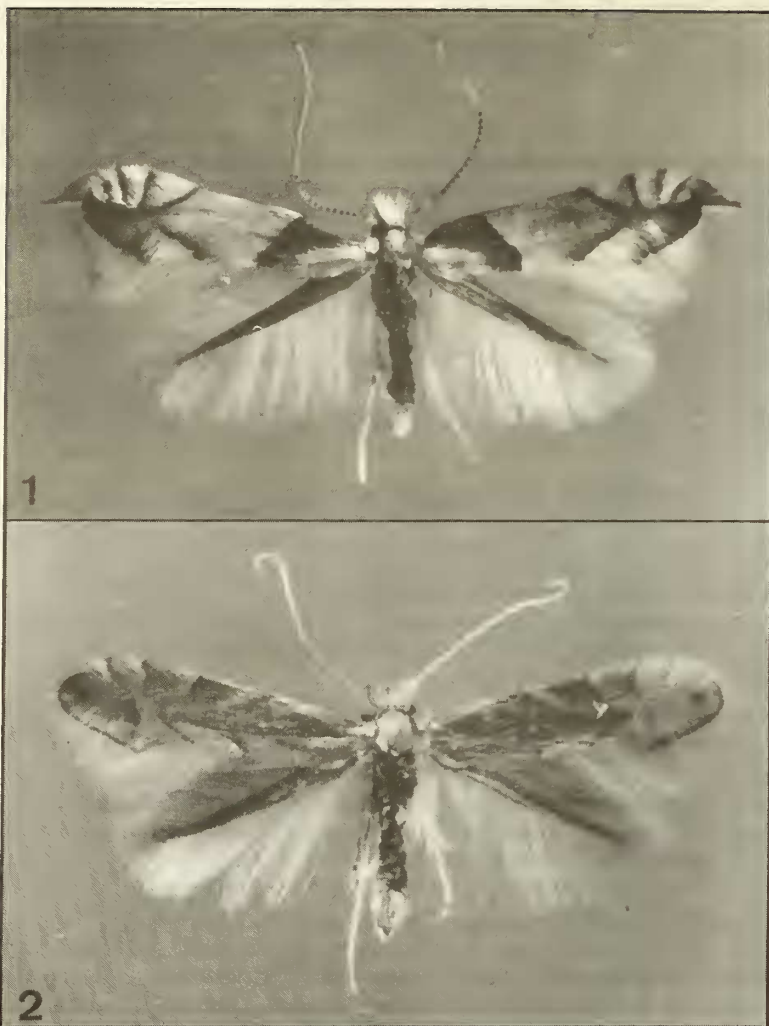
Abstract. Electrophoresis as a method to differentiate species of *Phyllonorycter* (Lepidoptera : Gracillariidae). Electrophoresis is sometimes used in Lepidoptera to differentiate closely related species. In Microlepidoptera however, this technique is seldom used. Just for experiment, some preparations of easily recognisable *Phyllonorycter*-species were made. These preparations showed remarkable differences in the strips of the different species.

Résumé. L'électrophorèse : méthode de détermination appliquée aux *Phyllonorycter* (Lepidoptera : Gracillariidae). Chez certains Lépidoptères, on utilise l'électrophorèse comme méthode de détermination des espèces voisines. Cette technique est toutefois peu utilisée en ce qui concerne les microlépidoptères. Trois espèces aisément déterminables ont été choisies à titre d'expérience, appartenant au genre *Phyllonorycter*. Il s'avéra quelques différences remarquables au niveau des bandes des différentes espèces.

Bij de determinatie van bepaalde Microlepidoptera is een zorgvuldig onderzoek van de morfologie, in het bijzonder van het genitaalapparaat, noodzakelijk. Zo is een soortenbepaling bij het genus *Phyllonorycter* HÜBNER vaak gebaseerd op onderzoek van het voorvleugelpatroon en de inwendige bouw van het abdomen. Soms volstaat dit echter niet om met 100% zekerheid een soort te determineren, omdat bepaalde soorten ook wat inwendige morfologie betreft veel op mekaar lijken.

Omdat bepaalde proteïnen soortspecifiek schijnen te zijn, zou het interessant kunnen zijn de elektroforese als determinatiehulpmiddel te gebruiken. Elektroforese is een scheidingstechniek voor macromoleculen, o.a. proteïnen. De proteïnen worden gedenatureerd en gekoppeld aan SDS (sodium dodecyl sulfaat), een detergent, zodat ze alle een gelijkwaardige negatieve lading krijgen. Onder invloed van een elektrisch veld migreren de eiwitten naar de anode. De poly-acrylamide gel, waarin deze migratie gebeurt, is eigenlijk een zeer fijne zeef waarin eiwitten met een hoge moleculaire massa trager migreren dan eiwitten met een lage moleculaire massa. Kortweg is SDS-elektroforese een techniek die een complex mengsel van SDS-gedenatureerde proteïnen kan scheiden in zijn componenten met verschillende moleculaire massa. De laatste jaren zijn de kleuringstechnieken gevoelig verfijnd zodat het mogelijk is om een zeer kleine hoeveelheid eiwit (ng) te detecteren zonder aan resolutie te moeten inboeten.

Bij sommige Lepidoptera gebruikt men deze techniek reeds op beperkte schaal om verschillen aan te tonen, maar een en ander is nog in een experimentele fase. Grootschalig gebruik van elektroforese wordt bemoeilijkt door de vrij ingewikkelde procedure die de methode buiten het gebruik brengt van de amateur die niet over een labo beschikt. Een minder prettig gevolg van de techniek is dat het onderzochte exemplaar geheel of gedeeltelijk vernietigd wordt. De techniek is goed geschikt voor de kleinere Microlepidoptera,

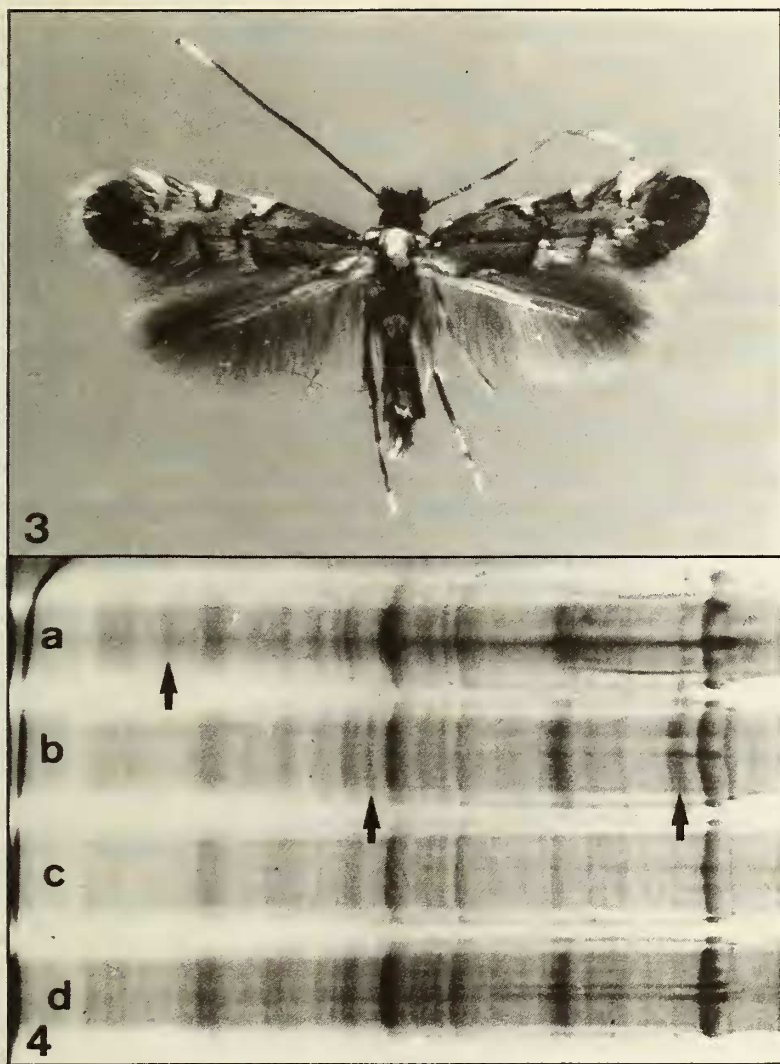


Figuur 1 : *Phyllonorycter roboris* ZELLER

Figuur 2 : *Phyllonorycter quercifoliella* ZELLER

aangezien 10-20 microgram staal met deze techniek zeer gemakkelijk kan gescheiden worden.

Bij wijze van experiment werden van drie gemakkelijk te determineren *Phyllonorycter*-soorten, namelijk *P. roboris* ZELLER (fig. 1), *P. quercifoliella* ZELLER (fig. 2) en *P. lautella* ZELLER (fig. 3), enkele stalen gemaakt. Alle eksemplaren werden verzameld op *Quercus robur* in het najaar van 1985 en



Figuur 3 : *Phyllonorycter lautella* ZELLER

Figuur 4 : SDS-PAGE met stalen van *P. roboris* (Mol, 7-III-1986 (a)), *P. lautella* (Turnhout, 13-III-1986 (b)) en *P. quercifoliella* (Turnhout, 20-III-1986 (c) en Turnhout, 24-III-1986 (d))

bereikten het volwassen stadium in maart 1986. De volledige exemplaren werden opgelost in kokende sample-buffer, en daarna bij -70°C bewaard. Van deze stalen werd een SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfaat-

polyacrylamide gel elektroforese) gelopen die gekleurd werd met de Coomassie Brilliant Blue kleuring. In de 10% acrylamide-gel waardoor een konstante stroom van 20 mA liep, werd een algemene scheiding van eiwitten bekomen. Om zo weinig mogelijk detailverlies te krijgen, werd de gel nog in natte toestand gefotografeerd (fig. 4).

De stalen a en b zijn respectievelijk afkomstig van *P. roboris* en *P. lautella*, c en d van *P. quercifoliella*. Hoewel uit een dergelijk beperkt experiment natuurlijk geen overhaaste konklusies mogen worden getrokken, kunnen we toch enkele opvallende verschillen in de banden tussen de soorten onderling konstateren. De pijltjes geven enkele plaatsen aan waar banden voorkomen die bij de andere soorten ontbreken of zeer zwak zijn. Het is logisch dat de meeste banden bij alle soorten voorkomen, aangezien het in alle gevallen gaat om Lepidoptera uit hetzelfde genus die op eenzelfde boomsoort gevonden werden! Toch vertonen c en d de meeste overeenkomsten (d is ten gevolge van een concentratieverschil sterker gekleurd) en het gaat hier inderdaad om dezelfde soort.

We kunnen besluiten dat het interessant zou zijn de elektroforese-techniek systematisch toe te passen op bijvoorbeeld *Phyllonorycter*-soorten, teneinde door een objectieve interpretatietechniek (scanningsdensitometrie) tot een welomschreven soortendifferentiatie te komen.

Met dank aan de heren Mark DE RAEYMAEKER, Guy DANEELS, Bart DE WEVER en Marc MOEREMANS voor hun deskundige hulp bij deze publikatie.

Literatuur

- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685.
- Verdonck, W., 1983. Het evalueren van electroblotting en immuno-visualisatietechnieken met als doel de serumspecifiteit van antilichamen tegen contractiele proteïnen van kippenmaag gladde spieren te testen. Proefschrift Katholieke Industriële Hogeschool Antwerpen, 127 p.

Henderickx H.A. : Wandelweg 11, B-2400 Mol